

CONTROL BIOLÓGICO DE *Tuta absoluta* (MEYRICK) (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) CON *Bacillus thuringiensis* (BERLINER)

Unidad Asociada de Entomología
IVIA-UJI-CIB.
Instituto Valenciano de Investigaciones
Agrarias. Centro de Protección
Vegetal y Biotecnología.
Moncada, Valencia (Spain).
gonzalez_joe@ivia.gva.es

Introducción

La polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae), es una plaga originaria de América del Sur donde es considerada como una de las más devastadoras del cultivo del tomate (Barrientos *et al.*, 1998; Estay, 2000; EPPO, 2006). Las pérdidas pueden llegar a ser de hasta el 100 % de la cosecha y los ataques son especialmente importantes en los frutos (López, 1991; Apablaza, 1992). (Foto 1).

En España, fue detectada por primera vez a finales de 2006 en el norte de Castellón (Urbaneja *et al.*, 2007) y a partir de 2007 y 2008 se ha propagado a gran velocidad por toda la cuenca mediterránea. Además, la plaga se ha propagado por otros países del entorno y se ha citado su presencia en Marruecos, Argelia, Túnez, Grecia, Italia y Francia (EPPO, 2008).

En la actualidad el manejo de esta plaga se basa en tratamientos

Resumen

La polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), es considerada una de las plagas más devastadoras del cultivo del tomate en América del Sur, donde las pérdidas suelen rondar entre el 60 y el 100 % de la cosecha. En España fue detectada a finales de 2006 en la zona de Castellón y desde entonces ha tenido una dispersión tan rápida que actualmente se ha descrito su presencia en varios países europeos y del norte de África. Hasta la fecha, el control de esta plaga se ha basado casi exclusivamente en tratamientos químicos, aunque se está poniendo especial énfasis en la implementación de estrategias más respetuosas con el medio ambiente. Los productos insecticidas basados en *Bacillus thuringiensis* (Bt) podrían ser una buena alternativa ya que han sido utilizados con éxito durante décadas para el control de otros lepidópteros plaga próximos a *T. absoluta*. Además, estos productos son inocuos para la fauna auxiliar, los enemigos naturales y los vertebrados. Recientemente, estudios llevados a cabo en la Unidad de Entomología del IVIA, han demostrado la alta eficacia que tiene Bt en el control de *T. absoluta* (González-Cabrera *et al.*, 2010). Tanto en estudios de laboratorio, semicampo y campo se ha comprobado que tratamientos de Bt, utilizado a una concentración de 90,4 MUI/l (Millones de Unidades Internacionales por litro), fueron capaces de reducir el daño provocado por la plaga a niveles mínimos, sin necesidad de insecticidas químicos. Además, la integración con otros métodos que centren su acción en el control de los huevos, como es el caso de los miridos depredadores también contribuiría decisivamente a la reducción en el uso de químicos y por tanto de sus residuos, lográndose un aumento en la calidad y seguridad de la fruta.

Palabras clave: Control Biológico, Bioinsecticidas, Entomopatógenos, Miridae

Abreviaturas: MUI/g: Millones de Unidades Internacionales por gramo, MUI/l: Millones de Unidades Internacionales por litro, WG: gránulos mojables, WP: polvo mojable.

con insecticidas químicos, que en muchas ocasiones han dificultado y comprometido el desarrollo e implementación de programas de gestión integrada de plagas. Además, el número de ingredientes activos contra *T. absoluta* y selecti-

vos para los enemigos naturales y los polinizadores es escaso lo cual hace necesaria la integración de otros métodos de control ya sean biológicos, culturales y/o biotecnológicos.

La bacteria entomopatógena, *Bacillus thuringiensis*

A pesar de que los productos basados en *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Foto 2) se han utilizado durante décadas para el control de diversas plagas (González-Cabrera y Ferré, 2008), se han realizado muy pocos estudios que evalúen su eficacia sobre *T. absoluta*. La mayoría de ellos se han realizado en la región de origen de la plaga (Giustolin *et al.*, 2001; Theoduloz *et al.*, 2003; Niedmann y Meza-Basso, 2006). En uno de esos trabajos, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) fue muy efectivo contra varios estadios larvales de *T. absoluta*, además se encontró que podía tener efectos sinérgicos o aditivos con genotipos de plantas de tomate que eran resistentes al ataque de la plaga (Giustolin *et al.*, 2001). En otro ensayo se demostró el gran potencial que tienen los aislados naturales de la región de origen para el control de *T. absoluta*. Dos aislados encontrados en Chile fueron más efectivos que la cepa aislada a partir del formulado comercial Dipel® (Niedmann y Meza-Basso, 2006). Por último, Theoduloz *et al.* (2003) exploraron la posibilidad de expresar la toxina Cry1Ab en otras especies de *Bacillus* que son capaces de colonizar el filopiano de las hojas. Sus ensayos sugirieron que es posible una reducción en el número de aplicaciones insecticidas porque estas especies permanecen en el filopiano durante 45 días y por tanto se mantiene de forma "natural" un nivel de toxina que sería imposible de alcanzar con los formulados habituales.

A pesar de estos estudios, el uso de Bt no ha sido muy frecuente en la cuenca mediterránea desde la detección de la plaga. De hecho, sólo se ha venido recomen-

dando su utilización cuando las poblaciones de *T. absoluta* son relativamente bajas.

Eficacia de distintos formulados

El primer paso fue probar la efectividad de varios de los productos comerciales basados en Bt, existentes en el mercado, que se emplean con regularidad en España para el control de otros lepidópteros plaga. Estos productos fueron: Dipel® DF (*B. thuringiensis* var. *kurstaki*, 32 MIU/g, WG, concentración máxima recomendada: 50 g/hl) y Xentari® GD (*B. thuringiensis* var. *aizawai*, 15 MIU/g, WG, concentración máxima recomendada: 200 g/hl) distribuido en España por Kenogard S.A. (Barcelona); Turex® (*B. thuringiensis* var. *aizawai*, 25 MIU/g, WP, concentración máxima recomendada: 200 g/hl) distribuido en España por Certis Europe B.V. suc. España (Murcia) y Costar® (*B. thuringiensis* var. *kurstaki*, 90,4 MIU/g, WG, concentración máxima recomendada: 50 g/hl) distribuido en España por Syngenta Agro. S.A. (Madrid).

Al ensayar estos productos frente a *T. absoluta* a las concentraciones máximas recomendadas, se observaron diferencias en la protección conferida por cada uno. Esto se debió a que aunque la concentración pulverizada fue la misma, en realidad la cantidad de ingrediente activo (MUI/l) era muy diferente. Al normalizar la dosis a 180,8 MUI/l para cada producto, todos los productos se comportaron de forma similar, reduciendo el daño alrededor de un 90 % y no se encontraron diferencias significativas entre ellos. Por tanto, estos resultados indican que las pulverizaciones de los formulados basados en Bt pueden ser muy eficaces frente a *T. absoluta* siempre y

cuando se apliquen a una concentración adecuada.

Eficacia sobre los estadios de *T. absoluta*

El conocimiento de la susceptibilidad de los distintos estadios de *T. absoluta* frente a los formulados basados en Bt es de vital importancia para establecer una estrategia correcta de tratamientos en función del nivel de infestación y la edad de las larvas. En el IVIA se realizó un ensayo donde se probó la efectividad de esta materia activa utilizada a 180,8 MUI/l sobre larvas de primero, segundo y tercer estadio de *T. absoluta* (Foto 3). Los resultados obtenidos demostraron que todos los estadios larvales de *T. absoluta* son susceptibles al tratamiento con Bt (Figura 1). No obstante, existen diferencias en el comportamiento de cada estadio. El daño en las hojas de las plantas infestadas con larvas de primer estadio se redujo 80 veces en comparación con las plantas control. Sin embargo, cuando se trataron las plantas infestadas con larvas de segundo y tercer estadio la reducción del daño, aunque significativa, fue de sólo 6 y 4 veces, respectivamente. Estos resultados son similares a otros obtenidos anteriormente donde también encontraron que las larvas de primer estadio eran las más susceptibles (Giustolin *et al.*, 2001). Además, es conocido que las variaciones en la susceptibilidad a las toxinas de Bt depende tanto de la especie como de la toxina en cuestión (Gilliland *et al.*, 2002).

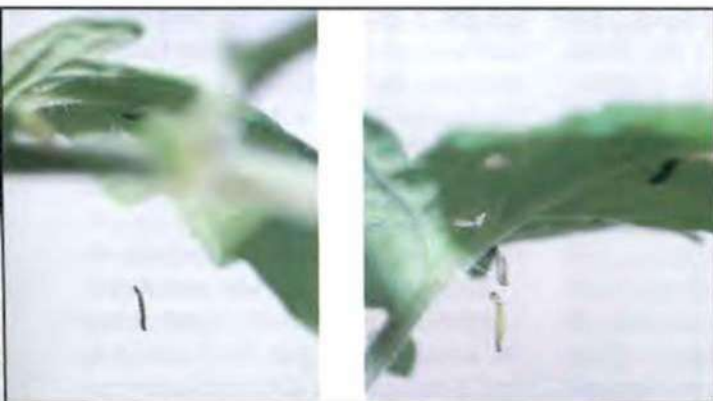
Texto sigue en pag. 479 ►



◀ Foto 1.
Adulto de *T. absoluta*.
Daños provocados
por las larvas de
Tuta absoluta en los
frutos de tomate.



Foto 2. ▶
Micrografía de un cul-
tivo esporulado de
Bacillus thuringiensis
al microscopio óptico
de contraste de fases.
Magnificación: 1000x.



◀ Foto 3.
Efecto de *Bacillus thuringiensis*
sobre las larvas
de tercer estadio
de *Tuta absoluta*.



Foto 4. ▶
Invernadero de
Anecoop. S. Coop.
(Museros, Valencia)
donde fue realizado
el ensayo. Trampa
delta utilizada para
monitorizar
la incidencia de la
plaga. Adultos de
Tuta absoluta captu-
rados en la trampa.
Vista interior del
invernadero.



Foto 5. ▶
Plantas del ensayo
realizado en la
parcela experimental
del IVIA (Moncada,
Valencia).

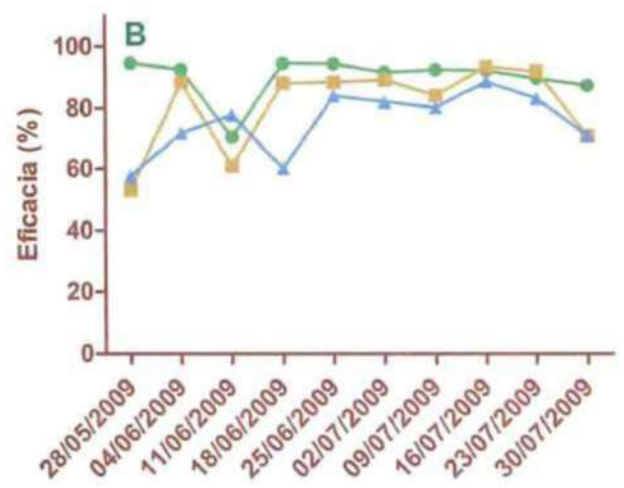
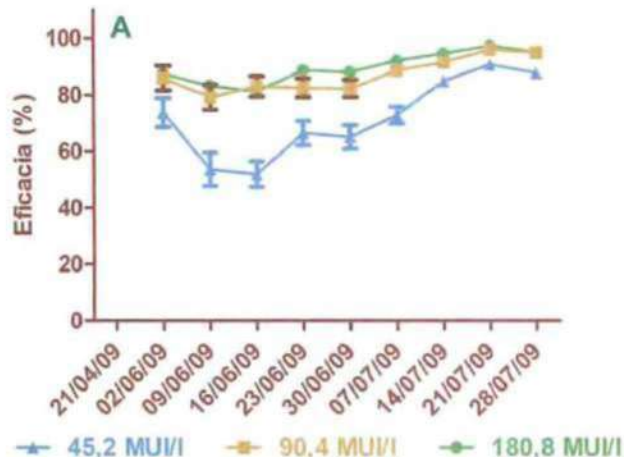
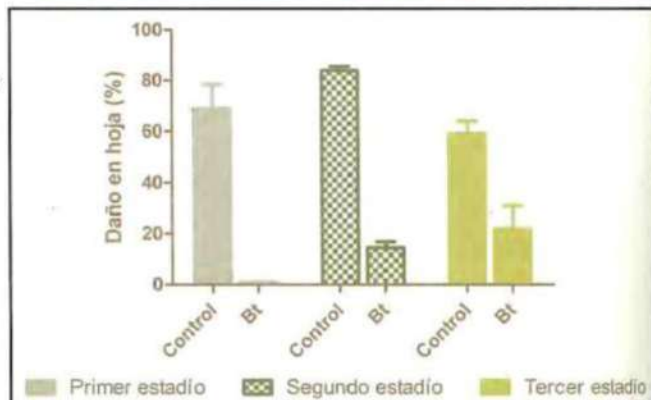


Figura 2. Eficacia de las diferentes concentraciones de ingrediente activo pulverizadas semanalmente en el Invernadero de Anecoop. S. Coop. (A) y en el campo experimental del IVIA (B). Se evaluó semanalmente el número de folíolos infestados por tratamiento. La eficacia se estimó según la formula de Abbot (Abbott, 1925)

Figura 1. ▶
Efecto de *Bacillus thuringiensis* sobre las larvas de primero, segundo y tercer estadio de *T. absoluta*. El daño en hoja se estimó como el porcentaje de la superficie destruida por las larvas en 15 hojas escogidas al azar en plantas tratadas semanalmente, durante un mes, con 180,8 MUI/l de Costar®. Los tratamientos comenzaron, en cada caso, cuando las larvas habían alcanzado el estadio correspondiente.



Ensayos de campo

Para conocer la eficacia de Bt como ingrediente activo para el control de *T. absoluta* en condiciones reales de infestación en campo, se diseñaron experimentos tanto en invernadero como al aire libre. A continuación, y a modo de ejemplo se resumen los resultados obtenidos en cada uno de los sistemas de manejo.

Invernadero

En un invernadero de 4000 m² de tomate valenciano que Anecoop S. Coop. tiene en Museros, Valencia (Foto 4) se dividió en 4 zonas, donde 3 de ellas fueron tratadas semanalmente con 45,2; 90,4 y 180,8 MIU/l de Bt (valores que corresponden a 50, 100 y 200 g/hl del producto comercial Costar®) entre el 8 de abril y el 23 de julio de 2009. La cuarta zona no fue tratada y se utilizó como control. Se siguieron las prácticas habituales del cultivo de tomate en este tipo de instalaciones. La infestación se produjo de forma natural y fue monitorizada con una trampa delta suplementada con feromona, colgada aproximadamente en medio del invernadero y a 1,5 m de altura. Desde el 26 de mayo los machos capturados semanalmente estuvieron por encima de 200, alcanzando un máximo de 375 el 28 de julio. Al inicio del ensayo apenas se observaron daños en las plantas de tomate. Sin embargo, a partir del 16 de junio se observó un aumento muy significativo de los daños en la zona no tratada, manteniéndose en niveles muy bajos en las zonas tratadas con Bt. La eficacia de los tratamientos, estimada según Abbot (Abbott, 1925), estuvo siempre entre el 80-90 % para las dos concentraciones más altas y fue ligeramente inferior en la zona tratada con 45,2 MUI/l. Las diferencias se

redujeron considerablemente hacia el final del experimento cuando la infestación en el control alcanzó los 55 foliolos infestados por planta (Figura 2A). Por otro lado, independientemente de las concentraciones utilizadas, no se encontraron frutos atacados en las zonas tratadas con Bt, en contraste con los 0,67 frutos por m² que encontramos en la zona control.

Campo

En un campo experimental de tomate plantado al aire libre en las instalaciones del IVIA, se realizó un diseño de bloques al azar con bloques de 6 plantas cada uno y 4 réplicas (filas). En cada réplica 3 de los bloques se trataron semanalmente con 45,2; 90,4 y 180,8 MIU/l de Costar® y el cuarto se dejó sin tratar y fue utilizado como control. Los tratamientos comenzaron el 15 de mayo y finalizaron el 30 de julio de 2009 (Foto 5). Se siguieron las prácticas habituales del cultivo del tomate en la zona tomatera de Levante. La infestación con *T. absoluta* ocurrió de forma natural y fue también monitorizada con una trampa delta suplementada con feromona, colgada en medio del campo a una altura de 1,5 m. En este caso el número de machos capturados alcanzó un máximo de 375 individuos el 8 de junio. Posteriormente el nivel se mantuvo oscilante, aunque nunca por debajo de los 150 individuos por semana.

Durante el desarrollo del experimento y debido, probablemente, a que sólo se aplicó Bt para el control de *T. absoluta* (no se aplicaron otros insecticidas), se detectó la presencia en el campo de depredadores generalistas, fundamentalmente míridos (Hemiptera: Miridae).

Los resultados obtenidos en

este campo mostraron que los tratamientos con Bt produjeron una disminución significativa del daño en comparación con el control a partir del 25 de junio, con una eficacia siempre por encima del 80 % (no hubo diferencias significativas entre ellos) (Figura 2B). Dos semanas antes de finalizar el ensayo los niveles de daño cayeron considerablemente tanto en las plantas tratadas con Bt como en el control. Esta disminución coincidió con la bajada en las capturas registradas en la trampa delta y con el aumento en el número de ninfas de míridos depredadores, las cuales fueron capaces de depredar tanto larvas como fundamentalmente huevos de *T. absoluta*. Se pudo distinguir 3 especies de míridos en el experimento: *Dicyphus maroccanus* Wagner, *Nesidiocoris tenuis* Reuter y *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae).

Un aspecto muy destacable es el relacionado con la protección de los frutos. El porcentaje de frutos infestados fue significativamente inferior en todos los tratamientos con Bt, sin que hubiese diferencias entre ellos. Sin embargo, al evaluar la cosecha no dañada, se encontró que esta fue significativamente mayor en las plantas tratadas con 90,4 y 180,8 MIU/l en comparación con las plantas control.

Consideraciones finales

Tomando en conjunto todos los resultados obtenidos hasta la fecha podemos decir que el impacto de *T. absoluta* puede reducirse a niveles muy bajos sólo con la pulverización de los productos formulados basados en Bt. No obstante es importante tener en cuenta que las dosis recomendadas por las casas comerciales para otros lepidópteros plaga, están por debajo de lo requerido para controlar *T. absolu-*

ta de forma efectiva. A partir de nuestros datos se podría concluir que la concentración óptima podría ser la de 90,4 MUI/l (p.e. 100 g/hl para Costar[®]), ya que no encontramos diferencias con el tratamiento realizado a 180,8 MUI/l y sí con el realizado a 45,2 MUI/l. A pesar de esto, es necesario realizar otros ensayos a fin de establecer la concentración más adecuada así como la frecuencia de tratamientos suficiente para lograr el control más efectivo y económicamente rentable de la plaga.

En estos trabajos también hemos observado el efecto depredador sobre *T. absoluta* de tres especies de miridos en condiciones de campo. Ya se había demostrado con anterioridad que este grupo de depredadores era capaz de utilizar fundamentalmente los huevos de *T. absoluta* como alimento (Urbaneja *et al.*, 2009). Además, también se han publicado casos en los que se ha logrado cierto control de la plaga en condiciones de campo utilizando estas especies (Arnó *et al.*, 2009; Mollá *et al.*, 2009). Entonces, la integración de las aplicaciones de Bt con las sueltas inoculativas o la conservación de los depredadores podría resultar en una estrategia muy efectiva y limpia medioambientalmente hablando ya que Bt actuaría sobre las larvas y los miridos atacarían preferentemente a los huevos.

En resumen, los resultados obtenidos tanto en laboratorio como en invernadero y campo demuestran que si los tratamientos se inician justo tras las primeras detecciones de adultos, puede conseguirse una alta eficacia de Bt en el control de *T. absoluta*, de forma tal que será posible diseñar estrategias basadas en esta bacteria con un impacto muy bajo sobre la

fauna auxiliar en particular y el medio ambiente en general. Además, como ya se ha explicado anteriormente, la integración con la utilización de los miridos depredadores reducirá de forma considerable las aplicaciones de insecticidas químicos y por tanto de los residuos en la fruta.

Agradecimientos:

Agradecemos a Anecoop S. Coop. por ceder sus instalaciones para la realización del ensayo de invernadero y por la inestimable ayuda brindada por su personal, especialmente a María del Carmen Rubio y a Ángel del Pino. Agradecemos también la ayuda técnica de Helga Montón y Jesús Estellés (IVIA). Este trabajo ha sido financiado en parte por la Conselleria d'Agricultura Pesca y Alimentació de la Generalitat Valenciana.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Apablaza, J. 1992. La polilla del tomate y su manejo. *Tattersal.* 79: 12-13.
- Arnó, J., Mussoll, A., Gabarra, R., Sorribas, R., Prat, M., Garreta, A., Gómez, A., Matas, M., Pozo, C. y Rodríguez, D. 2009. *Tuta absoluta* una nueva plaga en los cultivos de tomate. Estrategias de manejo. *Phytoma España.* 211: 16-22.
- Barrientos, Z. R., Apablaza, H. J., Norero, S. A. y Estay, P. P. 1998. Temperatura base y constante térmica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ciencia e Investigación Agraria.* 25: 133-137.
- EPPO. 2006. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Data sheets on quarantine pests. *Tuta absoluta*. http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Tuta_absoluta/DSGNORAB.pdf: 1-4.
- EPPO. 2008. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Data sheets on quarantine pests. *Tuta absoluta*. http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Tuta_absoluta/DSGNORAB.pdf: 1-4.
- Estay, P. 2000. Polilla del Tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). <http://alerce.inia.cl/docs/Informativos/Informativo09.pdf>: 1-4.
- Gilliland, A., Chambers, C. E., Bone, E. J. y Ellar, D. J. 2002. Role of *Bacillus thuringiensis* Cry1 δ -endotoxin binding in determining potency during Lepidopteran larval development. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1509-1515.
- Giustolin, T. A., Vendramim, J. D., Alves, S. B., Vieira, S. A. y Pereira, R. M. 2001. Susceptibility of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep. Gelechiidae) reared on two species of *Lycopersicon* to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Journal of Applied Entomology.* 125: 551-556.
- González-Cabrera, J. y Ferré, J. 2008. Bacterias Entomopatógenas, pp. 85-97. En Jacas, J. y Urbaneja, A. (eds.), *Control biológico de plagas agrícolas*. Phytoma/España.
- González-Cabrera, J., Mollá, O., Montón, H. y Urbaneja, A. 2010. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) for controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol. Enviado*
- López, E. 1991. Polilla del tomate: Problema crítico para la rentabilidad del cultivo de verano. *Empresa y Avance Agrícola.* 1: 6-7.
- Mollá, O., Montón, H., Vanaclocha, P., Beitia, F. y Urbaneja, A. 2009. Predation by the mirids *Nesidiocoris tenuis* and *Macrolophus pygmaeus* on the tomato borer *Tuta absoluta*. *IOBC WPRS Bulletin.* 49: 209-214.
- Niedmann, L. L. y Meza-Basso, L. 2006. Evaluación de cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* como una alternativa de manejo integrado de la polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick; Lepidoptera: Gelechiidae) en Chile. *Agricultura Técnica.* 66: 235-246.
- Theoduloz, C., Vega, A., Salazar, M., González, E. y Meza-Basso, L. 2003. Expression of a *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin *cry1Ab* gene in *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* strains that naturally colonize the phylloplane of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*, Mills). *J. Appl. Microbiol.* 94: 375-381.
- Urbaneja, A., Montón, H. y Mollá, O. 2009. Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus caliginosus* and *Nesidiocoris tenuis*. *Journal of Applied Entomology.* 133: 292-296.
- Urbaneja, A., Vercher, R., Navarro, V., García Marí, F. y Porcuna, J. L. 2007. La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. *Phytoma España.* 194: 16-23.